

氏名(本籍)	もり 森	かず 一	お 夫	(大阪府)
学位の種類	博士(理学)			
学位記番号	博甲第3553号			
学位授与年月日	平成16年7月23日			
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当			
審査研究科	生命環境科学研究科			
学位論文題目	Physiological and Morphological Studies on Photosensitivity of the Central Nervous System of <i>Limulus polyphemus</i> (カブトガニ中枢神経系の光感受性における生理学的・形態学的研究)			
主査	筑波大学教授	理学博士	林	純一
副査	筑波大学教授	理学博士	沼田	治
副査	筑波大学助教授	医学博士	中谷	敬
副査	筑波大学助教授	理学博士	山岸	宏

論文の内容の要旨

動物が光受容器官である眼のほかに、様々な神経性光受容器を介して外界の光情報を受容している(眼外神経光覚)ことが知られている。軟体動物や節足動物の中枢神経系においても光受容性のニューロンの存在することが報告されており、日周期活動や行動修飾との関連が示唆されている。しかし多くの場合、光受容ニューロンは多様な入力を受ける介在ニューロンであり、中枢における神経結合の複雑さからその機能的役割についてはいまだ十分な解析がなされていない。中枢神経系における光受容性の生理的機構や多様性を明らかにしていく上で、系統的な視点を踏まえた様々な種に対する比較生理学的研究が必要とされる。節足動物鋏脚類に属するカブトガニは系統的に古い体制を保持している節足動物である。眼を含む外部光受容器の解析に好適な材料として多くの研究がなされてきたが、中枢神経系における光受容性に関する研究は行われていない。森氏は本論文で、カブトガニの生体および摘出した神経節を用いて光刺激に対する応答を解析し、さらに中枢神経系のニューロンレベルで光応答の解析を行い、中枢神経系の光受容性について以下の結果を得た。

1. カブトガニ生体の腹部神経節下に発光ダイオードを設置し、腹部甲殻を介した中枢神経への光刺激に対する生体の反応を調べた。光刺激に対する体制運動の変化を観察すると同時に、埋め込み電極による心電図の変化および鰓板に接続した変位計による鰓運動の変化を記録して解析した。中枢神経系に光刺激をあたえると、体を屈曲するなどの運動変化と同時に心拍数の増大が記録された。これらの結果は、中枢神経系に対する光刺激が体制運動の変化のみならず、自律神経系を介した運動系に対しても変化を生じることが示している。
2. カブトガニの中枢神経系を摘出し、各神経節から派生する神経から運動出力としての遠心性インパルス記録しながら、神経節に与えた光刺激に対する運動出力の変化を調べた。カブトガニの中枢神経系は、前体部領域と後体部領域に大きく分かれている。それぞれが8個の神経節からなるが、前体部では8個が融合して脳を形成し、後体部では前方の4個は分かれているが後方の4個は融合している。前体部の脳が

ら派生する一部の神経（第7神経）および後体部のすべての神経節から派生する背側もしくは腹側の神経から運動出力を記録した。いずれの神経からも自発的な運動出力が観察され、さらにそれらの運動出力パターンが、神経節に対する光刺激によって変化することが判明した。また後体部腹髄のすべての神経節間を切断して各神経節を単離し、単一神経節からの運動出力の変化を調べたところ、いずれの神経節においても光刺激によってその出力パターンが変化することが見出された。これらの結果は、中枢神経系内で光受容部位は局在しておらず、脳および後体部のいずれの神経節にも存在していること、またそれが神経節内の運動ニューロンの活動に影響を及ぼしていることを示している。

3. 中枢神経系における光応答を細胞レベルで解析することを目的として、微小電極によるニューロンの細胞内電位記録を行った。その結果、後体部の全神経節において、20個の光受容ニューロンの同定に成功した。光受容ニューロンは自発的に活動電位を生じていたが、光照射から0.5 - 5秒の潜時で膜電位が徐々に脱分極して活動電位の頻度が増大し、光照射を止めると直ちにもとの頻度に低下した。シナプスを遮断するコバルトイオン（20 mM）を含む溶液中においても反応が生じることから、ニューロンが直接光を受容していることが示された。さらにニューロンの膜電位と神経の運動出力の同時記録から、光刺激による運動出力の変化が中枢内の光受容ニューロンの応答に依存したものであることが確かめられた。光刺激の強度を変えて刺激を行った結果、光受容ニューロンの応答は刺激強度に依存して増大し、反応が飽和に達するまでの刺激強度の範囲は約2桁であった。また光刺激を425 - 600 nmの範囲で短波長にして反応を調べた結果、光受容ニューロンは425 nmもしくはそれ以下の波長の光刺激に対して最大応答を示すことがわかった。電極から蛍光色素（Lucifer yellow）を注入して光受容ニューロンを細胞内染色し、その形態や局在を蛍光顕微鏡で調べた。その結果、光受容ニューロンの細胞体の長軸は約100マイクロメートルで、一本の軸索を神経節内の反対側に伸ばしていた。軸索の伸張が神経節内だけのニューロンと、さらにそれが前方および後方の神経節におよぶニューロンが観察された。軸索に沿って数本の分枝と細かい樹状突起が観察されたが、それらの広がり局所的で密度の低いものであったことから、ニューロンの光受容部位は細胞体であることが強く示唆された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

森氏は、カブトガニを材料として生体、摘出神経節、神経節内ニューロンなどの様々なレベルにおいて、中枢神経系における光受容性を解析した。その結果、カブトガニにおいては神経節毎に光受容ニューロンが存在し、それらは形態的に神経節内と神経節間の介在ニューロンに識別しうることを示した。さらに光受容ニューロンの光刺激に対する応答特性を明らかにした。これらの結果はこれまで知られている節足動物中枢神経系における光受容ニューロンとは異なった形態や分布を示すものであり、節足動物の中枢神経系における光受容ニューロンの系統的多様性を考える上で重要な成果となった。さらに光受容性ニューロンが単一神経節内において運動ニューロン群と機能的関連を持つことを明らかにし、これまで研究の進まなかった中枢光受容ニューロンの生理機能の解析に有効な材料となること、また細胞が大きいことからシグナル変換機構の研究にも好適な実験系となりうるものであることを示した。本論文の成果の前半部は学会誌に掲載されることが決まっており、後半部も米国の専門誌にわずかな修正の後掲載される予定である。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。